

**ISOLASI METABOLIT SEKUNDER DAN UJI
TOKSISITAS EKSTRAK METANOL KULIT BATANG
TANAMAN *Cerbera odollam* Gaertn. (APOCYNACEAE)**

Wina Noviana Widaningsih, Hilwan Yuda Teruna, Jasril

**Mahasiswa Program Studi S1 Kimia
Bidang Kimia Organik Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Kampus Binawidya Pekanbaru, 28293, Indonesia
*winanoviana.w@gmail.com***

ABSTRACT

Cerbera odollam Gaertn. was used in traditional medicine as a laxative and antipyretic treatment of dysuria. This Apocynaceae family member contains terpenoid, steroid, and several other chemical constituents, including iridoid that allegedly have cytotoxic activity. The *n*-hexane and methanol macerating method was applied to isolate the secondary metabolites from the stem bark of this plant. The separation was carried out by vacuum liquid chromatography (VLC) and gel chromatography respectively. Characterization of the fractions was established using UV-Vis, FTIR, NMR, and HR-MS spectroscopy which produced a colored orange needless cerbinal compound with melting point 188-189 °C. Toxicity assay was conducted by *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) method. The LC₅₀ of 2nd, 3rd, 4th, 8th, 10th, and 11th fractions of each methanol extract were 151.2; 56.96; 30.95; 3.37; 63.02 and 101.03 ppm, respectively. The 5th, 6th, and 9th fractions were not toxic whereas other fractions were toxic and potential to be used as an anticancer.

Keywords : *Cerbera odollam*, cerbinal, BSLT, toxicity test.

ABSTRAK

Cerbera odollam Gaertn. digunakan dalam pengobatan tradisional sebagai pencahar dan antipiretik untuk pengobatan disuria. Salah satu famili Apocynaceae ini mengandung terpenoid, steroid, dan beberapa kandungan kimia lainnya termasuk iridoid yang diduga memiliki aktivitas sitotoksik. Isolasi metabolit sekunder dari kulit batang tanaman ini menggunakan metode maserasi dengan pelarut *n*-heksana dan metanol. Pemisahannya dilakukan dengan kromatografi vakum cair (KVC) dan kromatografi gel. Karakterisasi dari hasil pemisahan menggunakan spektrofotometri UV-Vis, FT-IR, NMR, dan HR-MS menghasilkan senyawa cerbinal yang berupa kristal jarum berwarna oranye dengan titik leleh 188-189 °C. Uji toksisitas dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). LC₅₀ untuk fraksi 2, 3, 4, 8, 10, dan 11 dari ekstrak metanol

berturut-turut adalah 151,2; 56,96; 30,95; 3,37; 63,02 dan 101,03 ppm. Fraksi 5, 6 dan 9 tidak toksik, sedangkan fraksi-fraksi lainnya bersifat toksik dan berpotensi sebagai antikanker.

Kata kunci : *Cerbera odollam*, cerbinal, BSLT, uji toksisitas.

PENDAHULUAN

Famili Apocynaceae adalah salah satu tanaman yang banyak mengandung metabolit sekunder jenis alkaloid. Famili ini tersebar luas di negara-negara yang beriklim tropis dan subtropis dan diketahui saat ini memiliki sedikitnya 1.500 spesies dan terbagi menjadi 424 genus (Oesman et al., 2010). Jenis-jenis tanaman Apocynaceae umumnya tumbuh dikawasan hutan basah tropis dan sebagian di hutan subtropis. Spesies dari famili Apocynaceae merupakan pepohonan tropis, semak dan tanaman merambat. Karakteristik dari famili ini adalah hampir semua spesiesnya menghasilkan getah seperti susu (Wong et al., 2011). Spesies tanaman dari famili ini seringkali mengandung racun dan kaya akan alkaloid atau glikosida, terutama terdapat pada biji dan getah. Beberapa spesies merupakan sumber obat-obatan, insektisida, serat, dan karet alam (Ping-tao et al., 1995).

Cerbera odollam Gaertn. merupakan salah satu spesies dari famili Apocynaceae yang beracun. *C. odollam* termasuk tanaman mangrove yang berasal dari daerah tropis di Asia, Australia, Madagaskar, dan kepulauan sebelah barat Samudera Pasifik (Gaillard et al., 2004). Tanaman ini umumnya tumbuh di sepanjang aliran sungai, di rawa-rawa, dan di hutan mangrove, serta dapat juga ditemukan di savana atau tepi hutan sekunder (Khanh, 2001). Tanaman ini dalam

bahasa Indonesia dikenal dengan nama bintan, bintaro atau pong-pong. Sedangkan dalam bahasa Inggris tanaman ini dikenal sebagai *Sea Mango* (Hashim et al., 2009). Nama *Cerbera* berasal dari kandungan racun serberin yang terdapat dalam biji dan semua bagian pohon. Senyawa tersebut bersifat menghambat saluran ion kalsium dari dalam otot jantung manusia, sehingga mengganggu detak jantung dan dapat mengakibatkan kematian. Asap dari pembakaran kayunya dapat menyebabkan keracunan (Mardiasih, 2010).

Dari hasil penelitian, daun, buah dan kulit batang *C. odollam* mengandung saponin, daunnya mengandung polifenol dan kulit batangnya mengandung tanin (Gaillard et al., 2004). Selain itu, tanaman ini juga mengandung senyawa terpenoid, steroid, dan glikosida jantung yang memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker. Berdasarkan hal ini perlu dilakukan kajian lebih mendalam mengenai tanaman ini, khususnya kandungan kimia yang terdapat pada kulit batang tanaman *C. odollam*.

METODE PENELITIAN

a. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah HPLC Shimadzu LC solution jenis kolom Shim-pack VP-ODS, lampu UV model UVL-56, spektrofotometer IR merk Shimadzu

type IR Prestige-21, spektrofotometer UV-Visible merk Hitachi U-2001, spektroskopi NMR Agilent dengan medan magnet 500 MHz untuk proton dan 125 MHz untuk karbon, HR-MS di Institut Teknologi Bandung (ITB) dan peralatan gelas yang biasa digunakan di laboratorium.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit batang *Cerbera odollam* Gaertn. Bahan yang digunakan adalah metanol, *n*-heksana, etil asetat, DMSO, kloroform, etanol 70%, silika gel 60 GF₂₅₄ Merck, sephadex, plat KLT GF₂₅₄ Merck, akuades, logam magnesium, HCl pekat, besi (III) klorida 1%, kloroform, kapas, pereaksi Liebermann-Burchard, pereaksi Mayer, reagen Dragendorff, amoniak, H₂SO₄ pekat, dan reagen anisaldehyd.

b. Penanganan Sampel

Bahan tanaman yang digunakan adalah kulit batang *C. odollam* yang diambil dari lingkungan Universitas Riau. Kulit batang tersebut terlebih dahulu dibersihkan, kemudian dipotong kecil-kecil dan dikering-anginkan tanpa terkena sinar matahari. Setelah kulit batang kering kemudian ditumbuk hingga halus. Selanjutnya ditimbang beberapa kali sampai beratnya konstan.

c. Ekstraksi

Sampel serbuk kering kulit batang *C. odollam* sebanyak 1.300 g dimaserasi dengan pelarut *n*-heksana selama 1x24 jam sebanyak tiga kali pengulangan, lalu diultrasonikasi selama 30 menit dan disaring. Maserat yang didapat diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator*, hingga diperoleh ekstrak kental

n-heksana. Residu yang telah kering dimaserasi kembali dengan pelarut metanol sebanyak tiga kali, sehingga diperoleh ekstrak kental metanol.

Proses pemisahan senyawa-senyawa ekstrak metanol, dilakukan fraksinasi dengan menggunakan kromatografi vakum cair. Sebanyak 10 gram ekstrak metanol dilakukan preadsorpsi dan dimasukkan ke dalam kolom dengan perbandingan sampel dengan silika gel 1:8. Selanjutnya dielusi secara bergradien yang dimulai dari kepolaran yang rendah sampai kepolaran yang tinggi yaitu dimulai dari *n*-heksana 100%, *n*-heksana : etil asetat, sampai perbandingan etil asetat : metanol 1:1 dengan volume pelarut 150 ml. Hasil pemisahan ditampung dalam erlenmeyer yang telah diberi nomor, kemudian diuji dengan KLT.

Proses pemisahan dilanjutkan dengan kromatografi gel. Prinsip kerjanya hampir sama dengan kromatografi vakum cair. Perbedaannya adalah fase diam yang digunakan Sephadex. Sephadex dalam kolom dibuat padat dengan cara dielusi dengan pelarut *n*-heksana : etil asetat 8:2 secara berulang-ulang. Setelah kolom siap, kristal dilarutkan dengan eluen yang sesuai, kemudian dituangkan ke dalam kolom secara perlahan-lahan. Hasil pemisahan tersebut ditampung dalam vial, kemudian diuji dengan KLT.

Setelah didapat komponen berupa padatan yang masih kotor maka dilakukan rekristalisasi untuk menghilangkan pengotor sehingga didapatkan senyawa murni. Untuk menentukan kemurnian kristal dapat ditentukan dengan menggunakan alat penentu titik leleh Fisher John dan uji KLT, yaitu apabila titik leleh yang diperoleh memberi jarak yang tidak begitu besar (kecil atau sama dengan

2⁰C) dan noda yang dihasilkan dari uji KLT sudah satu noda, berarti kristal telah murni.

d. Karakterisasi

Senyawa murni yang diperoleh dilakukan karakterisasi dengan spektroskopi UV, IR, MS, dan NMR yaitu spektrum ¹H-NMR, spektrum ¹³C-NMR, HSQC, HMBC, dan ¹H-¹H COSY.

e. Uji Toksisitas

Uji toksisitas tahap awal dilakukan pada ekstrak kental metanol kulit batang *C. odollam* dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Sebanyak 20 mg ekstrak kental metanol dilarutkan dalam 2 mL metanol, maka diperoleh larutan induk dengan konsentrasi 10.000 ppm. Larutan ini dipipet sebanyak 0,5 mL ke dalam vial dan ditambahkan 5 mL metanol, maka diperoleh larutan dengan konsentrasi 1.000 ppm. Larutan ini dipipet sebanyak 0,5 mL ke dalam vial dan ditambahkan 5 mL metanol, maka diperoleh larutan dengan konsentrasi 100 ppm. Larutan dengan konsentrasi yang berbeda tersebut, masing-masing dipipet sebanyak 0,5 mL, dimasukkan ke dalam vial uji dengan tiga kali pengulangan. Vial uji yang sudah berisi pelarut dibiarkan menguap, tambahkan 50 µL DMSO dan air laut hingga mencapai batas kalibrasi. Larva udang dimasukkan ke dalam setiap vial uji sebanyak 10 ekor, tambahkan air laut sampai batas kalibrasi dan biarkan selama 24 jam, kemudian hitung larva yang mati. Data yang diperoleh digunakan untuk menghitung nilai LC₅₀.

Uji toksisitas juga dilakukan pada fraksi 2 (F₂) sampai dengan fraksi

11 (F₁₁) hasil kromatografi vakum cair dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tanaman *C. odollam* diperoleh dari lingkungan Universitas Riau dan bagian tanaman yang digunakan adalah kulit batang. Serbuk kering kulit batang tersebut kemudian dimaserasi dengan pelarut *n*-heksana, maserasi ini dilakukan selama 1x24 jam sebanyak 3 kali, sebelum dilakukan penyaringan dilakukan proses ultrasonikasi selama ± 30 menit. Ekstrak *n*-heksana yang diperoleh berwarna hijau tua sebanyak 129 gram. Dengan perlakuan yang sama residu yang telah kering diekstrak kembali dengan pelarut metanol sebanyak 3 kali, sampai diperoleh ekstrak metanol sebanyak 132 gram berwarna cokelat kehitaman. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak *n*-heksana memiliki kandungan metabolit sekunder golongan steroid dan saponin, sedangkan ekstrak metanol memiliki kandungan metabolit sekunder golongan terpenoid dan saponin.

Pemisahan menggunakan kromatografi vakum cair menggunakan ekstrak metanol sebanyak 10 gram dan diperoleh 11 fraksi. Fraksi 3 hasil pemisahan tersebut menghasilkan kristal jarum berwarna hijau tua sebanyak 2,9 gram. Karena kristal yang didapat belum murni, maka selanjutnya dilakukan pemisahan dengan kromatografi gel.

Hasil pemisahan dengan kromatografi gel diperoleh kristal berwarna hijau sebanyak 4 vial. Selanjutnya dilakukan pengujian dengan KLT dan menghasilkan banyak noda yang menunjukkan bahwa kristal

tersebut masih belum murni. Hal ini mungkin disebabkan karena ukuran molekul dari senyawa tersebut hampir sama sehingga tidak dapat dilakukan pemisahan dengan kromatografi gel. Karena memiliki nilai R_f yang sama, keempat vial tersebut kemudian digabung dan dilakukan rekristalisasi. Hasil rekristalisasi tersebut menghasilkan kristal murni berwarna oranye sebanyak 5,1 mg. Kristal ini selanjutnya diberi nama Fr3.

Karakterisasi senyawa Fr3 menggunakan spektroskopi UV pada hakikatnya menunjukkan ada tidaknya gugus kromofor yang terkandung pada senyawa uji. Hasil analisis spektrum UV memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 210, 250, 280, dan 332 nm.

Hasil analisis HPLC menunjukkan bahwa senyawa Fr3 tersebut merupakan senyawa murni karena memiliki satu puncak yang timbul pada kromatogram HPLC. Puncak tersebut muncul pada waktu retensi 9.945 menit dengan sistem pelarut bertingkat (20% hingga 95% asetonitril).

Karakterisasi dilanjutkan dengan menggunakan spektroskopi FT-IR untuk melihat gugus fungsi apa saja yang terkandung pada senyawa Fr3. Hasil spektroskopi FT-IR dapat diprediksi bahwa senyawa ini memiliki gugus-gugus fungsi antara lain gugus C=C aromatik pada bilangan gelombang 1395 dan 1470 cm^{-1} , gugus C=C alkena pada bilangan gelombang 1638 cm^{-1} , gugus C=O aldehyd pada bilangan gelombang 1722 cm^{-1} , dan C-H aldehyd pada bilangan gelombang 2779 cm^{-1} .

Analisis spektrum $^1\text{H-NMR}$ dalam CDCl_3 dengan frekuensi 500

MHz menunjukkan adanya 8 atom proton, sedangkan analisis spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ dalam CDCl_3 dengan frekuensi 125 MHz menunjukkan adanya 11 atom karbon.

Keterkaitan antara karbon dan proton yang terjadi pada senyawa Fr3 dapat dilihat dari spektrum HSQC. Korelasi antara karbon dan proton dapat dilihat dari spektrum HSQC. Pada C kuartener tidak memiliki signal karena C kuartener tidak memiliki ^1H . Melalui spektrum ini dapat diamati bahwa senyawa Fr3 memiliki 1 atom primer pada δ 52,6 (C-11), 5 atom tersier yaitu pada δ 185,2 (-COH), δ 150,9 (C-1), δ 149,6 (C-3), δ 113,7 (C-6) dan δ 148,2 (C-7), serta 5 atom kuartener yaitu pada δ 165,2 (-COOMe), δ 130,7 (C-5), δ 126,2 (C-8), δ 125 (C-9), dan δ 115,6 (C-4).

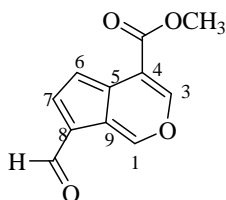
Korelasi HMBC memperlihatkan hubungan proton dengan karbon tetangga dengan jarak maksimum 4 ikatan. Berdasarkan spektrum, senyawa Fr3 dapat dilihat korelasi antara δH 9,96 dengan δC 125 (C-9) dan 126,2 (C-8), δH 9,22 dengan δC 125 (C-9), 130,7 (C-5) dan 149,6 (C-3), δH 8,71 dengan δC 115,6 (C-4), 130,7 (C-5), 150,9 (C-1) dan 165,2 (-COOMe), δH 8,04 dengan δC 113,7 (C-6), 125 (C-9) dan 130,7 (C-5), δH 7,09 dengan δC 125 (C-9) dan 148,2 (C-7), serta δH 3,97 dengan δC dengan 165,2 (-COOMe).

Selanjutnya untuk mendukung analisis spektroskopi terhadap senyawa Fr3, maka dilakukan perbandingan spektrum $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ senyawa Fr3 dengan senyawa cerbinal yang dilaporkan oleh Ohashi *et al.*, (1986) dari tanaman *Gardenia jasminoides* terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1: Perbandingan data pergeseran kimia $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) dan $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz) senyawa Fr3 dengan senyawa cerbinal (CDCl_3)

No.	$^1\text{H-NMR}$ Fr3	$^1\text{H-NMR}$ Cerbinal	$^{13}\text{C-NMR}$ Fr3	$^{13}\text{C-NMR}$ Cerbinal
1	9,22	9,14	150,9	149,7
2	-	-	-	-
3	8,71	8,51	149,6	148,1
4	-	-	115,6	115
5	-	-	130,7	130,2
6	7,09 (J=3 Hz)	7,13 (J=3 Hz)	113,7	113,4
7	8,04 (J=3,5 Hz)	7,94 (J=3,5 Hz)	148,2	147,8
8	-	-	126,2	125,1
9	-	-	125	124,4
COH	9,96	9,94	185,2	184,9
COOMe	3,97	4,00	165,2	164,6

Berdasarkan perbandingan data pergeseran kimia $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ (Tabel 1), senyawa Fr3 merupakan senyawa golongan iridoid yaitu cerbinal dengan rumus molekul $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{O}_4$.



Untuk mendukung data analisis spektrum ataupun karakterisasi struktur yang telah dilakukan melalui spektroskopi NMR, selanjutnya dilakukan analisis struktur melalui spektroskopi massa (MS) untuk mengkonfirmasi berat molekul dan rumus molekul senyawa Fr3 menggunakan *High Resolution MS*. Berat molekul Fr3 ditunjukkan oleh spektrum massa yang terekam sebagai $\text{C}_{11}\text{H}_9\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ dengan puncak ion molekul 205,0489 m/z sedangkan puncak ion molekul yang dihitung secara teoritis adalah m/z 205,0501,

selisih massa molekul tersebut 0,0012. Selisih massa berdasarkan spektrum massa yang terekam dengan massa perhitungan menunjukkan perbedaan yang sangat kecil sehingga senyawa Fr3 dinyatakan memiliki rumus molekul $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{O}_4$.

Hasil uji toksisitas ekstrak total metanol diperoleh nilai LC_{50} sebesar 40,28 ppm, ini menunjukkan bahwa ekstrak total metanol tersebut bersifat toksik. Uji toksisitas hasil pemisahan dengan kromatografi vakum cair dilakukan pada F_2 sampai dengan F_{11} yang bertujuan untuk mengetahui aktivitas toksisitas dari masing-masing fraksi setelah dilakukan pemisahan. Hasil uji toksisitas menunjukkan bahwa F_5 , F_6 , dan F_9 bersifat tidak toksik dengan nilai $\text{LC}_{50} \geq 1.000$ ppm, sedangkan F_2 , F_3 , F_4 , F_8 , F_{10} , dan F_{11} bersifat sangat toksik dengan nilai LC_{50} berturut-turut adalah 151,2, 56,96, 30,95, 3,37, 63,02 dan 101,03 ppm, hal ini disebabkan oleh senyawa-senyawa yang ada pada fraksi tersebut toksik terhadap larva udang *A. salina*. Data hasil uji toksisitasnya dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2: Hasil uji toksisitas fraksi metanol hasil KVC kulit batang *Cerbera odollam*

Fraksi	Konsentrasi (ppm)	Jlh larva per vial	Jumlah larva udang mati				% Kematian	Nilai probit	LC ₅₀ (ppm)
			I	II	III	Jlh			
F ₁	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F ₂	1000	10	7	8	8	23	76,67	5,772	151,2
	100	10	5	3	2	10	33,33	4,560	
	10	10	2	3	2	7	23,33	4,261	
F ₃	1000	10	9	9	10	28	93,33	6,476	56,96
	100	10	6	5	5	16	53,33	5,075	
	10	10	3	2	2	7	23,33	4,261	
F ₄	1000	10	10	10	9	29	96,67	6,881	30,95
	100	10	6	6	7	19	63,33	5,332	
	10	10	2	2	6	10	33,33	4,560	
F ₅	1000	10	5	6	4	15	50	5,000	≥1.000
	100	10	3	2	3	7	23,33	4,261	
	10	10	1	2	2	5	16,67	4,046	
F ₆	1000	10	3	5	5	13	43,33	4,824	≥1.000
	100	10	2	2	3	7	23,33	4,261	
	10	10	1	1	2	4	13,33	3,874	
F ₇	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F ₈	1000	10	9	9	10	29	96,67	6,881	3,37
	100	10	8	8	7	23	76,67	5,772	
	10	10	7	6	7	20	66,67	5,468	
F ₉	1000	10	5	5	4	14	46,67	4,950	≥1.000
	100	10	4	3	2	9	30	4,476	
	10	10	2	1	1	4	13,33	3,874	
F ₁₀	1000	10	7	7	8	22	73,33	5,613	63,02
	100	10	7	5	6	18	60	5,253	
	10	10	4	2	3	9	30	4,476	
F ₁₁	1000	10	6	7	5	18	60	5,253	101,03
	100	10	6	4	6	16	53,33	5,075	
	10	10	4	4	3	11	36,67	4,668	

KESIMPULAN

Fraksi 3 hasil fraksinasi dengan KVC dari ekstrak metanol menghasilkan senyawa Fr3 berupa kristal jarum berwarna oranye dengan berat 5,1 mg yang memiliki titik leleh 188-189 °C. Hasil karakterisasi dengan

spektroskopi UV, FT-IR, NMR, dan MS dapat dinyatakan bahwa senyawa Fr3 adalah cerbinal.

Hasil uji toksisitas menunjukkan bahwa ekstrak metanol kulit batang *C. odollam*, fraksi F₂, F₃, F₄, F₈, F₁₀ dan F₁₁ bersifat sangat toksik sedangkan fraksi F₅, F₆ dan F₉ bersifat tidak toksik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. Hilwan Yuda Teruna, M.Si, Apt yang telah mendanai dana penelitian saya dan Prof. Dr. Jasril, MS yang telah membimbing serta membantu penelitian dan memotivasi penulisan karya ilmiah ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Gaillard, Y., Krishnamoorthy, A., dan Bevalot, F. 2004. *Cerbera odollam*: a 'Suicide Tree' and Cause of Death in the State of Kerala, India. *Journal of Ethnopharmacology*. 95: 123–126.
- Hashim, R., Boon, J.G., Sulaiman, O., Kawamura, F., dan Lee C.Y. 2009. Evaluation of the Decay Resistance Properties of *Cerbera odollam* Extracts and their Influence on Properties of Particleboard. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 63: 1013–1017.
- Khanh, T.C. 2001. *Cerbera* L. dalam: van Valkenburg, J.L.C.H., dan Bunyapraphatsara, N. (Editor): *Plant Resources of South-East Asia No. 12 (2) Medicinal and Poisonous Plants 2*. Backhuys Publisher, Leiden, the Netherlands. Pp. 151-155.
- Mardiasih, W.P. 2010. *Aktivitas Insektisida dan Penghambat Peneluran Ekstrak Cerbera odollam dan Cymbopogon citratus terhadap Lalat Buah Bactrocera carambolae pada Belimbing*. Sekolah pascasarjana ITB, Bogor.
- Oesman, F., Murniana, Khairunnas, M., dan Saidi, N. 2010. Antifungal Activity of Alkaloid from Bark of *Cerbera odollam*. *Jurnal Natural*. 10: 2.
- Ohashi, H., Tsurushima, T., Ueno, T., dan Fukami, H. 1986. Cerbinal, a Pseudozulene Iridoid, as a Potent Antifungal Compound Isolated from *Gardenia jasminoides* Ellis. *Agric. Biol. Chem.* 50 (10): 2655-2657.
- Ping-tao, L., Leeuwenberg, A.J.M., dan Middleton, D.J. 1995. Apocynaceae. *Flora of China*. 16: 143–188.
- Wong, S.K., Lim, Y.Y., Abdullah, N.R., dan Nordin, F.J. 2011. Assessment of Antiproliferative and Antiplasmodial Activities of Five Selected Apocynaceae Species. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 11: 3.